



TITLE:

Non-overlapping roles of PD-1 and FoxP3 in maintaining immune tolerance in a novel autoimmune pancreatitis mouse model(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Zhang, Baihao

CITATION:

Zhang, Baihao. Non-overlapping roles of PD-1 and FoxP3 in maintaining immune tolerance in a novel autoimmune pancreatitis mouse model. 京都大学, 2016, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2016-11-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20056>

RIGHT:

許諾条件により本文は2017-01-04に公開; Original article: Biological Sciences - Immunology and Inflammation: Baihao Zhang, Shunsuke Chikuma, Shohei Hori, Sidonia Fagarasan, and Tasuku Honjo Nonoverlapping roles of PD-1 and FoxP3 in maintaining immune tolerance in a novel autoimmune pancreatitis mouse model. PNAS 2016 113 (30) 8490-8495; published ahead of print July 7, 2016, doi:10.1073/pnas.1608873113

京都大学	博士（医科学）	氏 名	章 白浩
論文題目	Non-overlapping roles of PD-1 and FoxP3 in maintaining immune tolerance in a novel autoimmune pancreatitis mouse model (新たな自己免疫性膵炎マウスモデルを用いた免疫寛容の維持における PD-1 と FoxP3 の非重複の役割)		
(論文内容の要旨)			
<p><u>背景及び目的</u></p> <p>Programmed-death 1 (PD-1) は活性化リンパ球に発現する抑制型受容体であり、免疫寛容において重要な役割を果たしている。PD-1 ノックアウトマウス (KO) は遺伝的背景により重症度や標的臓器が異なる自己免疫疾患を発症するが、その詳細なメカニズムは不明である。制御性 T 細胞 (regulatory T; Treg) は免疫寛容の維持に重要な細胞群で、転写因子である FoxP3 がその機能に必須である。PD-1 は Treg に高発現することが知られているが、Treg の恒常性や機能を PD-1 が調節するかについては明らかになっていなかった。本研究では、Treg 及びその抑制機能における PD-1 の役割について、レポーターマウスを用いて検討した。</p>			
<p><u>方法、結果及び考察</u></p> <p>PD-1KO マウスに、FoxP3⁺Treg にのみ GFPcre 融合タンパク質を発現するレポーターマウス (FoxP3-GFPcre KI) を交配すると、生後 3 ヶ月以内に全例が死亡するという、予期せぬ現象を見つけた。このマウスを調べたところ、脾臓やリンパ節の腫大と活性化 T 細胞の集積が起こり、組織染色から、膵臓の外分泌部が多くの単核球、特に CD8⁺T 細胞の浸潤により破壊されることがわかった。このような表現型の原因として、FoxP3-GFPcre KI マウスの CD4⁺T 細胞には内因性 FoxP3 の発現が低下することを見出し、FoxP3-GFPcre KI PD-1 KO は、Treg 機能の軽度の低下と、PD-1 欠損の相乗効果により自己免疫疾患、特に膵炎を発症して死亡すると考えた。このことは、FoxP3 発現が正常な野生型 (WT) マウス由来の Treg を、生後 3 日以内の FoxP3-GFPcre KI PD-1KO マウスに移植すると、自己免疫症状が抑制され、生存率が増加することにより証明した。次に、このモデルを用い、PD-1 の Treg における機能を調べた。FoxP3 発現が正常な PD-1KO マウス由来の Treg による同様の移入実験では、PD-1KO 由来 Treg の方がより膵炎症状を緩和し、活性化 T 細胞の増殖を抑えたことから、Treg 細胞の抑制機能には、FoxP3 が不可欠であるが、PD-1 は必須ではなく、むしろ抑制的に働いていると考えられた。</p> <p>FoxP3⁺Treg 細胞の一部が FoxP3 の発現を停止し、ex-FoxP3 といわれるエフェクター T 細胞に再分化する現象が知られている。PD-1 が ex-FoxP3 の出現に関与するかについて確認した。FoxP3-GFPcre KI を Rosa-RFP KI マウスと交配すると、ex-FoxP3 はかつて FoxP3 を発現した GFP⁺RFP⁺として検出できる。まず、雌の FoxP3-GFPcre KI/WT Rosa-RFP KI PD-1KO マウスを調べた。このマウスは X 染色体不活性化により半分の WT アリルが正常な量の FoxP3 を発現するため、自己免疫疾患を発症しない。これらのマウスでは PD-1 欠損下で、FoxP3⁺と ex-FoxP3 の増加を認めた。また、PD-1 欠損の ex-FoxP3 がより多量の IFN-γ、IL-17a と IL-10 を産生した。これより、非炎症性環境では PD-1 が Treg の分化を抑制し、FoxP3 の発現を維持することで ex-FoxP3 T 細胞を抑えることを示唆した。</p>			

次に、雄の FoxP3-GFPcre KI Rosa-RFP KI PD-1KO マウスにおいても、同様の検討を行った。PD-1 欠損による ex-FoxP3 (RFP ⁺ 細胞に占める割合) の増加は、自己免疫発症前の 2 週齢のマウスには見られたが、発症後には見られなくなったことから、ex-FoxP3 は自己免疫疾患の発症をもたらす主要な因子ではなく、他のエフェクター T 細胞をヘルプすることにより疾患に寄与するのではないかと考えた。この検証に当たり、自己免疫を発症した FoxP3-GFPcre KI Rosa-RFP KI PD-1KO から CD8 ⁺ 、ex-FoxP3 細胞を分離し、CD8 ⁺ 、ex-FoxP3 単独あるいは ex-FoxP3 と CD8 ⁺ の両方を Rag-2 KO マウスに移植した。1 ヶ月後、ex-FoxP3 単独あるいは ex-FoxP3 と CD8 ⁺ が両方を移植したマウスにおいて体重の減少、大腸炎と膵炎が起こった。以上の結果から、PD-1 の欠損下では、ex-FoxP3 や細胞傷害性エフェクター細胞の産生が亢進し、増加した ex-FoxP3 T 細胞は直接及び間接的に、自己免疫疾患に関与すると考えられた。
<p><u>結語</u></p> <p>本研究より、免疫寛容の維持においては、PD-1 と FoxP3 は主に非重複の経路を通じて働いていることが判明した。今後は Treg 細胞の抑制機能における PD-1 の作用機構を解明していくことで、自己免疫寛容の破綻による自己免疫疾患の解決に向けて貢献すると考えられる。</p>
(論文審査の結果の要旨)
本研究は、自己免疫寛容において重要な役割をすると考えられる制御性 T 細胞における PD-1 の作用機能に対して、遺伝学的、免疫学的方法により詳細に調べたものである。まず、内因性の FoxP3 発現が低下している FoxP3-GFPcre KI マウスで PD-1 を欠損させると、リンパ球増殖の亢進とともに、致死的な膵炎が発症することを発見した。そのマウスをレシピエントとして、FoxP3 発現が正常な野生型、あるいは PD-1 欠損マウス由来の制御性 T 細胞を移植することで、制御性 T 細胞の抑制機能における PD-1 の機能を検証した。その結果は、制御性 T 細胞が自己免疫疾患を抑えるには、FoxP3 の発現が必要であり、逆に PD-1 はそれを抑制することを示唆した。また、PD-1 の欠損により、自己反応性の ex-FoxP3 細胞の増殖が促進され、細胞傷害性エフェクター細胞の増加と共に、組織傷害に寄与することも明らかにした。以上の研究は、ヒト自己免疫疾患の発症機構解明のモデル動物となりえる自己免疫性膵炎マウスを発見しただけではなく、免疫寛容の維持における PD-1 と FoxP3 の作用経路の解明に貢献し、自己免疫寛容と自己免疫疾患の理解を深めることに寄与する。
したがって、本論文は博士（ 医科学 ）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 10 月 24 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公表可能日： 年 月 日